

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：15401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K18845

研究課題名（和文）材料選定による建築空間の微生物環境の制御に関する基礎的研究

研究課題名（英文）Fundamental study on control of microbial community in building environment with material selection

研究代表者

寺本 篤史（Teramoto, Atsushi）

広島大学・先進理工系科学研究科（工）・准教授

研究者番号：30735254

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、代表的な多孔質建築材料であるコンクリート・木質材料の表層部に着目し、表層部に生息する微生物の消長に影響を与える、材料学的条件（空隙構造、表層含水率、pH）、温湿度環境条件（温度、相対湿度、換気量）を明らかにすることを目的に実施した。その結果、湿式スワブ法による微生物の採取効率は建材種類間で採取効率が極端な差異が生じないこと、建材表層に生息する菌の2割程度を採取できること、含水率が低くpHを計測することができない建材は試料粉末を使用したpHの測定方法が妥当であること、環境相対湿度が同じであっても建材種類が異なると表層部の微生物の繁殖状況が異なることが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

建築物には多種多様な材料が使用されており、材料表層や内部に生息する微生物を極力環境のまま採取する方法は確立されていない。本研究では、微生物生態学分野の研究者らと共同して、微生物を採取するためのサンプリング方法、およびDNA抽出法の妥当性を示した。

本手法を用いて、セメント系材料の微生物群集構造の分析を実施し、材料中の含水率よりむしろ材料の空隙の寸法が微生物の消長により大きな影響を与えている可能性が高いことを示した。以上の成果は、建築業界の新たな知見を得ただけでなく、異分野間における学術融合の推進に貢献している。

研究成果の概要（英文）：In this study, we focused on the surface of concrete and wood materials, which are typical porous building materials, to clarify (1) material conditions and (2) temperature and humidity environmental conditions that affect the growth of microbes living in the surface. The results showed that the collection efficiency of microorganisms by the wet swabbing method did not differ significantly among building materials, that about 20% of bacteria living in the surface of materials could be collected, that the pH measurement method using sample powder was appropriate for building materials with low moisture content for which pH could not be measured, and that even if the relative humidity was the same, the pH of the surface was not significantly different among building materials. It was confirmed that the growth of microorganisms in the surface layer differs depending on the type of building material, even if the environmental relative humidity is the same.

研究分野：建築材料・維持管理

キーワード：微生物 建材 コンクリート 木質材料 湿式スワブ法 pH 含水率 DNA濃度

## 1. 研究開始当初の背景

建築業界ではアレルギー抑制の観点から微生物の一種であるカビに関する研究が盛んに行われており、温湿度がカビの生息に影響することが分かっている。しかし建築材料の観点から、多孔質材の空隙構造に着目し、微生物の構成種類や量、構成比あるいはその経年変化について体系的に検討した研究事例は見られない。上述の研究も特定のカビを対象としており、建築材料表層部の微生物の多様性に関する研究はほとんど進んでいない。

本研究により建築材料の物理学的な特性や周辺の温湿度が、微生物の消長に影響を与えることが明らかにされることで、新築時の材料選定のデータとして活用できるだけでなく、既設建築物でも、表層部に付着した微生物を採取しその構成種類・量を取得する新たな診断方法の提案、居住者の健康に影響する衛生微生物学的に好ましい住環境を提供する手法の開発など、幅広い活用が見込める。

現状、実構造物の建材表層部に生息している微生物の知見は少なく、微生物のサンプリング方法も確立されていない。建材表層部から微生物を採取する方法の一つにスワブ法があり、著者らはコンクリート外壁を対象に湿式スワブ法で採取できる DNA 量が採取領域に応じて対数的に増加することを報告した。また、Holosova et al. は、せっこうボードとコンクリートを対象に 3 種類の方法で微生物採取を行った結果、採取された菌の属が採取方法によって異なることを報告している。しかし建材表層部の微生物の採取方法に関しては未だ知見が少なく定まった方法がない。建材側の調査方法についても課題があり、例えば建材の含水率や pH の定量方法が問題となる。建材の pH の測定事例は数が多く、建材種類によっては既知のものとして扱われることが多い。しかし実際の建築空間では、湿度のばらつきや劣化の進行等により、同一の建材内でも pH の分布が生じている可能性が高い。その代表的な事例としてコンクリートの中性化が挙げられる。局所的な微生物群集と建材内の水分の pH との関係性を明らかにするためには、局所的な pH の測定方法が確立されていることが望ましい。建材の pH を計る場合には、各研究機関がその都度考えた測定方法を用いているのが現状である。

## 2. 研究の目的

研究の背景を踏まえ、本研究ではまず、木、コンクリート、せっこうボードを対象に、湿式スワブ法を用いた場合の微生物の採取効率の検討、建材の pH 測定方法によって生じる誤差を整理し、妥当な測定方法を提案する。次に、各種相対湿度環境における建材表層部の微生物群集の消長、およびセメント系材料に着目し、屋外曝露中の含水率、DNA 濃度の変化について測定を行う。例えばコンクリートは多孔質材料であり、建築物の供用期間中に細孔構造は経年変化する。空隙構造の変化やひび割れの発生は、コンクリート外部からの劣化因子の経路となることで劣化の進行を促進する。緻密なコンクリートほど劣化因子の侵入が発生しづらいことから、コンクリートの品質を評価する因子として透気性が重要視されている。また、空隙構造と含水率は相互依存するため含水率の経時変化を適切に評価することも重要である。

本研究の最終目標は、多孔質材料の調湿作用を活用して、建築材料の選定により衛生微生物学的な住環境の向上に資する基盤技術を確立することであるが、本申請テーマでは、代表的な多孔質建築材料であるコンクリートおよび木質材料の表層部に着目し、表層部に生息する微生物の消長（構成種類、量および構成比）に影響を与える、材料学的条件（空隙構造、表層含水率、pH）、温湿度環境条件（温度、相対湿度、換気量）を明らかにすることを目的とした。

微生物の生息領域の寸法に関して、建材を対象としたデータはほとんど取得されていないものの、高分子表面に微細構造を転写し微生物付着量の制御を検討した研究では数十  $\mu\text{m}$  と数  $\mu\text{m}$  の二重構造が細菌および真菌の付着を抑制すること、数十  $\mu\text{m}$  の表面構造が 5~10 $\mu\text{m}$  の菌糸を持つ真菌類の付着量を顕著に増加させること、岩石表面のクラックの大きさが支配的に存在する微生物に選択的に作用している可能性が示されている。以上の既往研究から建築材料の特にコンクリート表層部に生じる微細ひび割れのようなマイクロオーダーの空隙は、微生物の群集構造に影響を与えている可能性が高いと考えられるため、本研究では細孔構造が大きく異なるセメント系材料を用いて、細孔径分布が微生物の生息可能性に影響を及ぼしうるか検証を行った。

## 3. 研究の方法

### 3.1 建材からの微生物の取得方法に関する実験概要

建材として多用される各種の多孔質材料は表層部に凹凸を有し、吸水性も高い材料が多い。そのため湿式スワブ法で採取可能な微生物量や種類は材料種類の影響を受ける可能性が高い。そこで本実験は一般的な多孔質建材を使用して、湿式スワブ法に依る採取効率を明らかにすることを目的とした。

本実験では一般的な多孔質建材として、木、コンクリート、せっこうボードを使用した。スワブ面積は既往研究を参考に概ね 150mm 角となるように既製品から選定した。各種建材はそれぞれ、木(桐の集成材, 147×147×13 mm)、コンクリート(138×138×120 mm)、防水ボード(150×150×13 mm)を用意した。

本実験は微生物の採取効率を明らかにすることが目的であるため、既知の微生物量を付与する必要がある。本実験では、幅広い pH 環境で生息可能かつ培養期間が短い *Bacillus subtilis natto* を採用し、10 倍段階希釈法によって原液の CFU を測定したうえで、原液を 100 倍希釈した希釈液を、各種建材表層部に植菌した。

図 1 左図に示す様に植菌面の片側に 0.25mL の希釈液を植菌し塗抹した。この作業を図中の ~ の箇所に実施し、各試験体に計 1.0mL の希釈液を植菌した。シャーレ上には直接 1.0mL を植菌した。植菌後、図 1 右図に示す要領でスワブスティックを平行方向及び垂直方向にストロークさせ、微生物を採取した。本実験では DNeasy PowerBiofilm Kit (QIAGEN) を使用し、DNA 抽出プロトコルに則り、スワブおよび生理食塩水の DNA 濃度を測定した。

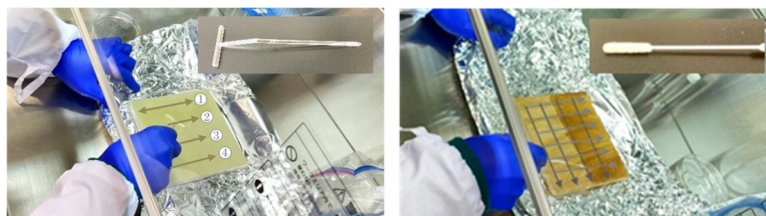


図 1 左：植菌時と右：スワブ時の様子

### 3.2 建材の pH 測定に関する実験概要

本実験では、建材を粉末状にしてイオン交換水に溶かし、その溶出液の pH を測定した。実験パラメータは、建材の粒度及び建材を溶かす際の試料と超純水の比率とした。実験に用いた建材は、スギ、せっこうボード、モルタルの 3 種である。

### 3.3 異種建材上の微生物の消長観察に関する実験概要

本実験では使用した多孔質材料は、木材(スギ、マツ、ヒノキ)、セメント系材料(W/C=55%, 250%, 300%), せっこうボード(普通, 防水, 化粧)の計 9 種類で、それぞれの建材を 40×40 に成型した小型の試験体を使用した。接種した微生物種は *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis natto*, *Grifola frondosa* の 3 種類である。建材上での養分として、*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis natto* を接種する建材に対しては LB 培地を、*Grifola frondosa* を接種する建材に対しては YPD 培地をそれぞれの建材に含浸させた。微生物を接種した建材を静置する環境の相対湿度を飽和塩法によって制御した。本実験では相対湿度 100% (水), 94.6% (硝酸カリウム), 85.1% (塩化カリウム), 75.5% (塩化ナトリウム) の 4 水準を設けた。植菌は試験体の中央部に 2μL ずつ滴下した。滴下直後から、0, 3, 7, 11, 16 日に質量測定と試験体撮影を実施した。

### 3.4 異なる空隙構造を持つセメント系材料における微生物の量的変化に関する実験概要

構造物壁面における微生物の多寡は壁面の材料特性および環境条件に左右されると考えられる。本実験では実コンクリート構造物壁面に付着している微生物を採取し、DNA を抽出することにより経時的な微生物量の変化を取得した。本実験ではスワブ法を用いて実構造物壁面から微生物試料の採取を行った。

コンクリート造屋外壁面の細孔構造の粗密と微生物の生息状況の関連性を調査するにあたり、本実験では透気係数によって壁面の密実性を評価した。また、材料の細孔構造により水分保持力および微生物が生息する空間量が異なると考えられるため、細孔構造が異なるモルタルサンプリングを作製し、実構造物壁面に設置して経時的に DNA 濃度および含水率を取得した。各種サンプラーに対して水銀圧入式ポロシメータにより細孔径分布を測定した。細孔径および細孔容積を図 2 に示す。サンプラーを広島大学の RC 造建屋の屋外壁面に設置し、約 3 ヶ月ごとに採取した。

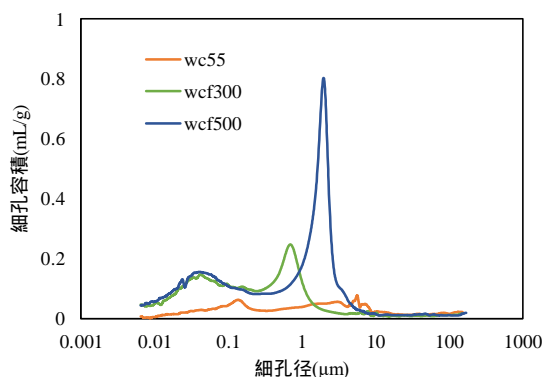


図 2 セメント系サンプラー細孔径分布

## 4. 研究成果

### 4.1 建材からの微生物の取得方法に関する実験結果

図4の棒グラフは、スワブおよび生理食塩水をろ過したフィルタ(以下、フィルタ)から抽出された各試験体のDNA濃度を示し、折れ線グラフは各種建材のDNA濃度合算値の平均を、シャーレから得られたDNA濃度で除した値(採取効率)を示している。

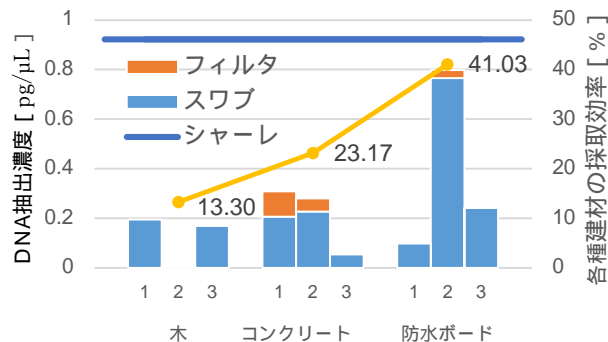


図3 各試験体のDNA抽出濃度と採取効率

図より、採取効率の平均値は、防水ボード>コンクリート>木の順に大きかったがばらつきが大きいので、湿式スワブ法の採取効率としては2割程度を期待して、複数回実施することが望ましいと考えられた。また、コンクリートから採取したスワブスティックには多くの微粉が付着し、生理食塩水にもコンクリート微粉による混濁が見られた。本実験で採取効率にばらつきがみられる原因としては、微生物を希釈液として与えているため吸水量が大きい試験体で植菌時に表層部から微生物が移動した可能性が考えられた。一方、試験体の飽和含水率と採取できるDNA濃度に相関関係はみられなかった。このことは湿式スワブ法により採取可能な微生物量は、建材内部の空隙量よりむしろ表層部の凹凸や空隙の連続性の影響が大きいことを示唆している。

著者らの検討において、同様の採取方法で実際のコンクリート外壁から1.0[pg/ $\mu$ L]以上のDNA濃度が抽出されている。本実験の試験体からは1.0[pg/ $\mu$ L]未満のDNA濃度しか抽出されていないため、本実験で使用した希釈液(CFU:約600)と比較して、実環境にはより多くの微生物が生息している可能性が考えられた。

### 4.2 建材のpH測定に関する実験結果

スギは、pHが7より小さいが、ミルサーにかかる時間が短く粒度が粗いものほど測定初期のpH変動が大きい結果であった。しかし粒度によらずpHの経時変化は5分程度で一定値に達し20分後にはほとんど変動が見られなくなった。最終的なpHは、粒度が粗いものほど小さい値を示した。せっこうボードの粒度がpHに及ぼす影響についても、スギと同様に粒度が細かいほど早期に安定した値が得られた。しかし安定するまでにかかる時間はスギより長く、測定開始から100分程度で値は安定し始め、150分を超えたあたりで変化がほとんど見られなくなった。モルタルの粒度がpHの変化に与える影響に関しては、粒度の影響が他の材料より大きく、これは、粉末中のセメント量が影響したものと考えられる。すなわち、粒度の大きな試料には骨材が多く含まれる可能性が高く、同一質量で計量した場合の試料中のセメント量が少なくなるためである。モルタルの局所的なpHの値としては、モルタル全体を極力細かく粉砕した粉末を使用するのが望ましいと言える。また、どの粒径においても測定開始から70分程度で値が安定しはじめ、80分あたりで変化がほとんどなくなる結果であった。

### 4.3 異種建材上の微生物の消長観察に関する実験結果

培地を24時間含浸させた後の質量増加量はせっこうボード>木材>セメント系材料の順に多く、その後の乾燥量も同様の傾向であった。またW/Cが大きいモルタルやせっこうボードは乾燥時の質量減少量が大きくなっており、粗な空隙構造を反映していると考えられる。

YPD培地を含浸させた試験体では、表層部に黒色の微生物と綿上の白い微生物の増殖が確認された。これらの微生物の増殖している場所と外観から*Grifola frondosa*とは考えられず、120°C24時間の強熱乾燥で滅菌しきれなかった微生物がYPD培地環境で増殖した可能性が考えられる。LB培地環境では、白色の微生物の増殖は同様に確認できるものの黒色の微生物は確認されていないことから、同一の空隙構造、水分環境を有する建材上であっても、与える養分によって増殖する微生物の種類が異なることが確認された。また、セメント系材料の試験体に着目すると、1 $\mu$ m程度の粗大な空隙を多数有するW/C300%の試験体で、100%RHの場合には中央部に*Grifola frondosa*とみられる微生物の増殖が確認された一方、75%RH環境では目視では*Grifola frondosa*の増殖が確認できず、同様にW/C=55%の試験体の100%RHでも*Grifola frondosa*の増殖は確認されなかった。この結果は、乾燥の程度が微生物の増殖に影響を与えることを再確認するものであると同時に、微生物の増殖には適した空隙径があることを示唆する。

#### 4.4. コンクリート壁面の透気係数と抽出された DNA 濃度

広島大学内の屋外壁面から検出された DNA 濃度および透気係数の経時変化を図 4 に示す。本実験では、(A)前回スワブを行った同一の面から採取する方法と、(B)同一壁面内でスワブの箇所を変えていく方法の二つのスワブ法を実施している。これは、一度のスワブ作業においてどの程度の微生物群集が取り除かれ、また、取り除かれた試験面に再度微生物が付着する時間と量を確認するためである。

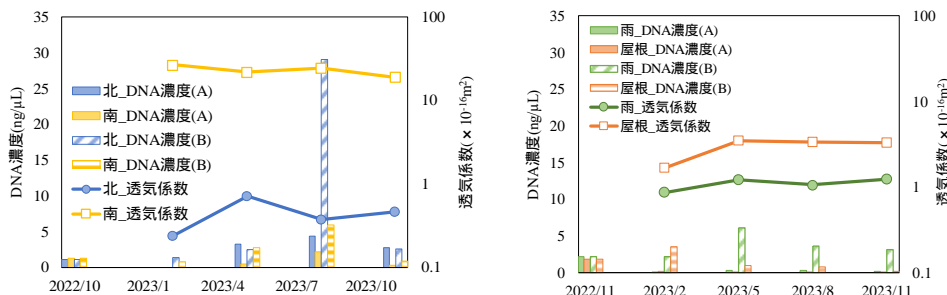


図 4 実構造物から検出された DNA 濃度および壁面の透気係数の経時変化

同一箇所から採取を続けた実験結果に着目すると、二回目の採取時に DNA 濃度が大きく減少し、その後夏季に再び増加している傾向が確認された。この結果から、スワブによって壁面からそぎ落とされた微生物群集が再び成長するまでの期間は少なくとも 3 か月以上必要であり、その速度は季節に依存することを資させている。一方、(B)の採取面を毎回変えて採取した試料は、測定回を追うごとに DNA 濃度が増加する傾向が見られた。このことから微生物群集は立体的に成長する可能性が示唆される。透気係数の実験結果を見ると北面は南面と比較して透気係数が小さく、またいずれの壁面でも透気係数の季節変動はほとんど見られなかった。

外壁面における雨がかりの有無に着目すると、雨がかりがない壁面では、1 年を通して DNA 濃度が小さく、2 月の測定値が最大であるのに対し、雨がかり面では 5 月が最大であった。また、透気係数の経時変化に着目すると雨がかりがない壁面が常に大きい透気係数を示した。この結果の一つの要因として定期的に雨水が供給されることにより、雨がかりがある壁面では表層の含水率が高く保たれていることが挙げられる。壁面から検出される DNA 濃度は透気係数に関わらずおおよそ  $5\text{ng}/\mu\text{L}$  以下となり、透気係数と DNA 濃度には相関が見られなかった。2 章で述べたように、コンクリートの透気性は気体分子が移動することができる連続空隙の量および空隙内に移動を阻害する流体の有無によって決定し、数十から数百ナノメートルの空隙が大きな役割を果たす。本実験の範囲内では、一桁程度の透気係数差で評価される空隙構造の粗密は微生物の生育にほとんど影響しないと考えられる。

次に、マイクロオーダーの空隙径が微生物の生息に及ぼす影響を確認するため、セメント系サンプラーの比較を行う。広島大学内に設置したセメント系サンプラーの質量あたり DNA 濃度および含水率の経時変化を図 5(a), (b), (c) に示す。

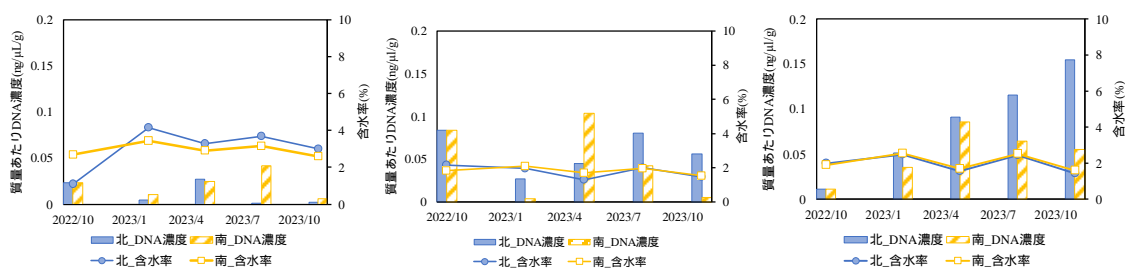


図 5 広島大学壁面に設置したサンプラーから抽出された DNA 濃度および含水率の経時変化

図 5(a) に示すデータより wc55 では季節変動による DNA 濃度の増減はほとんど見られなかったものの、マイクロオーダーの空隙を有する試験体では DNA 濃度が春季から夏季にかけて増加し、秋季に向けて減少する傾向が見られた。また、北面では秋にかけても一様に増加傾向が継続していた。これらの変化は粗大な空隙内での微生物の省庁や、雨水などによる外部からの微生物の流入を示唆している。マイクロオーダーの空隙を持つサンプラーでは含水率の小さな変動に対して、DNA 濃度の絶対値および変化量が大きくなる傾向が確認された。本実験で使用したサンプラーは特有の空隙構造を有するため、含水率 6% の時にどの空隙まで水で満たされる可能性があるのかを算出することが困難であるが、季節変動に伴う DNA 濃度の変化が生じていることは事実であり、季節性の降雨により土壌微生物の群集構造や活性が変化するという既往研究を踏まえると、雨水の供給の影響を含めた含水率の履歴が中長期的な微生物生息に影響を与えている可能性が考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 蔵富千奈, 寺本篤史	4. 巻 未定
2. 論文標題 異なる空隙構造を持つセメント系材料における微生物の量的変化	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 日本コンクリート工学会年次論文集	6. 最初と最後の頁 未定
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高橋功督, 蔵富千奈, 寺本篤史
2. 発表標題 材料選定による建築空間の微生物環境の制御に関する基礎的研究（その1 湿式スワブ法による各種建材上に生息する微生物の採取効率に関する検討）
3. 学会等名 日本建築学会大会（近畿）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 日本睦実, 森拓郎, 石山央樹, 寺本篤史
2. 発表標題 材料選定による建築空間の微生物環境の制御に関する基礎的研究（その2 建材のpHの測定方法に関する検討）
3. 学会等名 日本建築学会大会（近畿）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 寺本篤史, 蔵富千奈, 澁田知樹, 高橋功督, 北村咲乃
2. 発表標題 材料選定による建築空間の微生物環境の制御に関する基礎的研究（その3 各種建材表層部における微生物の繁殖状況に関する検討）
3. 学会等名 日本建築学会大会（近畿）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	森 拓郎 (Mori Takuro)  (00335225)	広島大学・先進理工系科学研究科(工)・准教授  (15401)	
研究分担者	石山 央樹 (Ishiyama Hiroki)  (90634436)	大阪公立大学・大学院工学研究科・准教授  (24405)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------